



(10) **DE 10 2018 110 083 A1** 2019.10.31

(12) **Offenlegungsschrift**

(21) Aktenzeichen: **10 2018 110 083.3**
 (22) Anmeldetag: **26.04.2018**
 (43) Offenlegungstag: **31.10.2019**

(51) Int Cl.: **G02B 21/06** (2006.01)
G02B 21/24 (2006.01)
G02B 27/10 (2006.01)
G02B 27/28 (2006.01)
G02F 1/13 (2006.01)
G02F 1/11 (2006.01)
G02F 1/03 (2006.01)

(71) Anmelder:
Carl Zeiss Microscopy GmbH, 07745 Jena, DE

(72) Erfinder:
Netz, Ralf, Dr., 07745 Jena, DE; Siebenmorgen, Jörg, Dr., 07743 Jena, DE; Kleppe, Ingo, Dr., 07749 Jena, DE

(74) Vertreter:
Prisma IP Patentanwaltskanzlei, 80637 München, DE

(56) Ermittelter Stand der Technik:

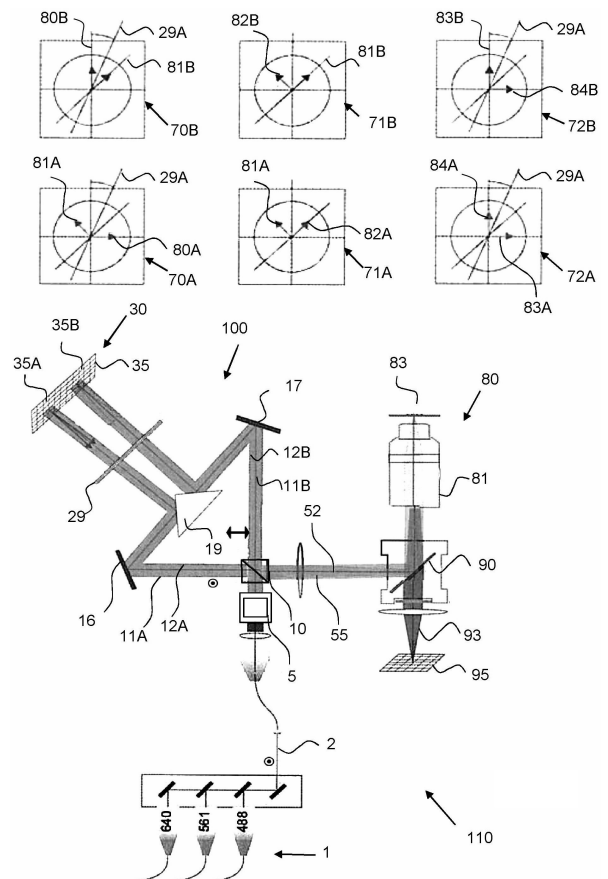
DE	10 2013 227 107	A1
EP	3 422 088	A1

Rechercheantrag gemäß § 43 PatG ist gestellt.

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen.

(54) Bezeichnung: **Optikanordnung zur flexiblen Mehrfarbbeleuchtung für ein Lichtmikroskop und Verfahren hierzu**

(57) Zusammenfassung: Eine Optikanordnung zur flexiblen Mehrfarbbeleuchtung für ein Lichtmikroskop umfasst einen AOTF (5), welcher dazu eingerichtet ist, zwei Lichtanteile von auftreffendem Beleuchtungslicht (2) in unterschiedliche Beugungsordnungsrichtungen zu beugen, wobei sich die zwei Lichtanteile in ihrer Wellenlänge und Polarisation unterscheiden, oder einen EOM, mit dem zwei zeitlich aufeinander folgende Lichtanteile (2A, 2B) unterschiedlicher Wellenlänge auf verschiedene Polarisationsrichtungen eingestellt werden. Ein Polarisationsstrahlteiler (10) trennt die beiden Lichtanteile (2A, 2B) unterschiedlicher Wellenlänge und Polarisation in Reflexionslicht (12A), das am Polarisationsstrahlteiler (10) reflektiert wird, und Transmissionslicht (12B), das am Polarisationsstrahlteiler (10) transmittiert wird. Eine Lichtstrukturierungsvorrichtung (30) prägt dem Transmissionslicht und dem Reflexionslicht verschiedene Strukturierungen auf. Anschließend werden das strukturierte Transmissionslicht (12B) und das strukturierte Reflexionslicht (12A) durch den Polarisationsstrahlteiler (10) oder einen weiteren Polarisationsstrahlteiler wieder auf einen gemeinsamen Strahlengang (55) zusammengeführt.



Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung bezieht sich in einem ersten Aspekt auf eine Optikanordnung zur flexiblen Mehrfarbbeleuchtung für ein Lichtmikroskop nach dem Oberbegriff des Anspruchs 1.

[0002] In einem zweiten Gesichtspunkt betrifft die Erfindung ein Verfahren zum Bereitstellen einer zur flexiblen Mehrfarbbeleuchtung in einem Lichtmikroskop nach dem Oberbegriff des Anspruchs 14.

[0003] Für zahlreiche Mikroskopiertechniken ist es erforderlich, eine Probe gleichzeitig oder kurz nacheinander mit Licht unterschiedlicher Wellenlängen zu beleuchten. Beispielsweise kann es gewünscht sein, eine Probe mit zwei verschiedenen Lichtwellenlängen zur Anregung gleichzeitig oder kurz aufeinander zu beleuchten. Auch kann es gewünscht sein, zwei verschiedene Lichtwellenlängen zur Photostimulation einer Probe, oder eine Wellenlänge zur Photostimulation und eine andere Wellenlänge zur Anregung der Probe, gleichzeitig zu nutzen.

[0004] Unter Licht einer Wellenlänge kann in dieser Offenbarung Licht eines bestimmten Wellenlängenbereichs verstanden werden, wobei die Bereichsbreite prinzipiell nicht beschränkt ist. Unter zwei verschiedenen Lichtwellenlängen können demgemäß zwei verschiedene, voneinander beabstandete Wellenlängenbereiche verstanden werden.

[0005] Prinzipiell sind zahlreiche verschiedene Vorgehensweisen bekannt, um Licht bestimmter Wellenlängen auszuwählen und eine Strahlformung vorzunehmen. In vielfältiger Weise können beispielsweise Wellenlängenbereiche einer breitbandigen Lichtquelle ausgewählt werden oder verschiedene schmalbandige Lichtquellen, zum Beispiel Laser, können gleichzeitig oder nacheinander genutzt werden. Zur Strahlformung können ebenfalls viele verschiedene Techniken genutzt werden, beispielsweise Blenden oder DMD (digital micromirror device), mit denen eine räumliche Struktur über einen Strahlquerschnitt eingestellt werden kann.

[0006] Eine gattungsgemäße Optikanordnung umfasst einen AOTF (akusto-optischen durchstimmbaren Filter, englisch: acousto-optical tunable filter) oder EOM (Elektrooptischer Modulator). Der AOTF ist dazu eingerichtet, zumindest zwei Lichtanteile von auftreffendem Beleuchtungslicht in unterschiedliche Beugungsordnungsrichtungen zu beugen, wobei sich die zwei gebeugten Lichtanteile in ihrer Wellenlänge und Polarisation unterscheiden. Je nach Schaltung und Aufbau können die beiden Lichtanteile gleichzeitig oder kurz nacheinander aus demselben Beleuchtungslicht erzeugt werden. Wird stattdessen ein EOM verwendet, so werden Lichtanteile verschiedener Wellenlängen zeitlich nacheinander zum EOM

geleitet. Dies kann auch als Zeitmultiplexing bezeichnet werden. Beispielsweise können Lichtblitze / -pulse verschiedener Wellenlängen verwendet werden. Diese können die gleiche Polarisation haben. Der EOM kann sodann die zwei zeitlich aufeinander folgenden Lichtanteile unterschiedlicher Wellenlänge auf verschiedene Polarisationsrichtungen einstellen. Hierzu kann der EOM schnell geschaltet werden, das heißt zwischen aufeinander folgenden Lichtanteilen (Lichtpulsen) kann der EOM geschaltet werden. Insbesondere kann der EOM unterschiedliche Polarisationsrichtungen, beispielsweise lineare, zueinander senkrecht stehende Polarisationsrichtungen für die beiden aufeinander folgenden Lichtanteile einstellen.

[0007] Bei einem gattungsgemäßen Verfahren zur flexiblen Mehrfarbbeleuchtung für ein Lichtmikroskop ist in entsprechender Weise vorgesehen, dass mit einem AOTF zwei Lichtanteile von auftreffendem Beleuchtungslicht in unterschiedliche Beugungsordnungsrichtungen gebeugt werden, wobei sich die zwei Lichtanteile in ihrer Wellenlänge und Polarisation unterscheiden, oder dass mit einem EOM zwei zeitlich aufeinander folgende Lichtanteile unterschiedlicher Wellenlängen auf verschiedene Polarisationsrichtungen eingestellt werden.

[0008] Ein AOTF umfasst ein anisotropes, doppelbrechendes Medium, beispielsweise ein Glas oder einen Kristall, durch den eine akustische Welle gesendet wird beziehungsweise an den ein elektrisches Feld angelegt wird. Dadurch variiert periodisch der Brechungsindex und einfallendes Licht wird gebeugt. Hierbei wird einfallendes Licht in verschiedene Richtungen, die verschiedenen Beugungsordnungen entsprechen, abgelenkt. Zudem kann dies wellenlängenabhängig erfolgen. So können zwei unterschiedliche Wellenlängen in unterschiedliche Beugungsordnungen abgelenkt werden. Insbesondere können aus dem Licht einer breitbandigen Lichtquelle, oder aus den kombinierten Lichtstrahlen mehrerer Laser, verschiedene Wellenlängen ausgewählt werden, die beispielsweise zur Probenbeleuchtung genutzt werden. Der in eine erste Beugungsordnung abgelenkte Lichtanteil erfährt eine Polarisationsdrehung und hat dadurch eine andere Polarisation als der Lichtanteil, der ungebeugt, das heißt in der nullten Beugungsordnung, durch das Medium verläuft.

[0009] Prinzipiell ist es wünschenswert, eine Beleuchtung zu ermöglichen, bei der zwei Beleuchtungswellenlängen einstellbar sind und gleichzeitig eine weitgehend beliebige Strahlformung ermöglicht wird. Dies sollte sehr schnell und möglichst ohne Bewegungen mechanischer Komponenten erfolgen.

[0010] Als eine Aufgabe der Erfindung kann angesehen werden, eine Optikanordnung für ein Lichtmikroskop und ein entsprechendes Verfahren anzugeben, welche eine Mehrfarbbeleuchtung in möglichst

flexibler, schnell änderbarer Weise ermöglichen, bei einem gleichzeitig möglichst einfachen und stabilen Aufbau.

[0011] Diese Aufgabe wird durch die Optikanordnung mit den Merkmalen des Anspruchs 1 und durch das Verfahren mit den Merkmalen des Anspruchs 14 gelöst.

[0012] Vorteilhafte Varianten der erfindungsgemäßen Optikanordnung und des erfindungsgemäßen Verfahrens sind Gegenstand der abhängigen Ansprüche und werden außerdem in der folgenden Beschreibung erläutert.

[0013] Bei der Optikanordnung der oben genannten Art sind erfindungsgemäß Optikkomponenten zum gemeinsamen Weiterleiten der zwei Lichtanteile auf einen gemeinsamen Strahlengang vorgesehen. Auf diesem gemeinsamen Strahlengang ist ein Polarisationsstrahlteiler angeordnet, mit dem die zwei Lichtanteile polarisationsabhängig räumlich getrennt werden, nämlich in Reflexionslicht, das am Polarisationsstrahlteiler reflektiert wird, und Transmissionslicht, das am Polarisationsstrahlteiler transmittiert wird. Eine Lichtstrukturierungsvorrichtung ist vorgesehen, mit welcher dem Transmissionslicht und dem Reflexionslicht verschiedene Strukturierungen aufgeprägt werden können. Der Polarisationsstrahlteiler oder ein weiterer Polarisationsstrahlteiler ist so angeordnet, dass er das strukturierte Transmissionslicht und das strukturierte Reflexionslicht auf einen gemeinsamen Strahlengang zusammenführt. Der gemeinsame Strahlengang kann insbesondere in Richtung einer zu untersuchenden Probe führen.

[0014] In analoger Weise werden bei dem Verfahren der oben genannten Art erfindungsgemäß mit einem Polarisationsstrahlteiler die beiden Lichtanteile unterschiedlicher Wellenlänge und Polarisation getrennt. Einer der Lichtanteile wird als Reflexionslicht am Polarisationsstrahlteiler reflektiert. Der andere der Lichtanteile wird als Transmissionslicht am Polarisationsstrahlteiler transmittiert. Mit einer Lichtstrukturierungsvorrichtung werden dem Transmissionslicht und dem Reflexionslicht verschiedene Strukturierungen aufgeprägt. Mit dem Polarisationsstrahlteiler oder einem weiteren Polarisationsstrahlteiler werden das strukturierte Transmissionslicht und das strukturierte Reflexionslicht auf einen gemeinsamen Strahlengang zusammengeführt.

[0015] Die Erfindung nutzt die Eigenschaft, dass der durch einen AOTF gebeugte Lichtanteil eine andere Polarisationsrichtung hat als ungebeugtes Lichtanteil, wobei sich diese beiden Lichtanteile in ihrer Wellenlänge oder Wellenlängenzusammensetzung unterscheiden können, beziehungsweise nutzt die Erfindung die Eigenschaft, dass durch einen EOM sehr schnell nacheinander verschiedene Lichtanteile, die

sich in der Wellenlänge unterscheiden, auf verschiedene Polarisationsrichtungen gedreht werden können. So können vom AOTF / EOM zwei Lichtanteile ausgegeben werden, die insbesondere senkrecht zueinander polarisiert sind und sich in ihrer Wellenlänge unterscheiden. Beim Stand der Technik wird der am AOTF ungebeugte Lichtanteil häufig ausgeblendet und nicht weiter genutzt. Im Unterschied dazu können bei der Erfindung diese beiden Lichtanteile weitergeleitet werden, und zwar auf einen gemeinsamen Strahlengang. Optikkomponenten hierzu können demnach so angeordnet sein, dass sie sowohl einen gebeugten als auch einen ungebeugten Lichtanteil einfangen, also insbesondere die Lichtanteile einer nullten und einer ersten Beugungsordnung. Die Optikkomponenten können beispielsweise ein oder mehrere Linsen, Spiegel oder Prismen umfassen. Durch die unterschiedlichen Beugungsordnungen unterscheiden sich die Ausbreitungsrichtungen der beiden Lichtanteile geringfügig. Es kann vorgesehen sein, dass die Optikkomponenten, die auf den AOTF / EOM folgen, dazu gestaltet sind, diesen Unterschied in den Ausbreitungsrichtungen der zwei Lichtanteile zu reduzieren. Hierzu kann ausgenutzt werden, dass die beiden Lichtanteile sich in ihrer Wellenlänge unterscheiden. Haben die Optikkomponenten eine Dispersion (wellenlängenabhängige Brechkraft), so können sie die beiden Lichtanteile verschieden beeinflussen. Die Dispersion und Form der Optikkomponenten kann so gewählt sein, dass ein durch die verschiedenen Beugungsordnungen verursachter Abstand zwischen den zwei Teilstrahlen verringert (und nicht etwa vergrößert) wird.

[0016] Durch den Polarisationsstrahlteiler, der insbesondere ein Polarisationsstrahlteilerwürfel sein kann, werden die beiden Lichtanteile auf verschiedene Strahlengänge geführt. Hierbei wird genutzt, dass die beiden Lichtanteile zueinander senkrecht polarisiert sein können. Das am Polarisationsstrahlteiler reflektierte Licht (nachfolgend Reflexionslicht) entspricht daher einem der Lichtanteile und das transmittierte Licht (nachfolgend Transmissionslicht) entspricht dem anderen Lichtanteil. Der Strahlengang, auf den das Reflexionslicht geleitet wird, wird nachfolgend als erster Strahlengang bezeichnet und der Strahlengang des Transmissionslichts wird entsprechend als zweiter Strahlengang bezeichnet.

[0017] Nachdem die beiden Lichtanteile durch die Lichtstrukturierungsvorrichtung unabhängig voneinander geformt wurden, werden sie wieder auf einem gemeinsamen Strahlengang zusammengeführt. Dies kann mit einem zusätzlichen Polarisationsstrahlteiler erfolgen oder mit demselben Polarisationsstrahlteiler, der zunächst die räumliche Trennung bewirkt hat.

[0018] Der Polarisationsstrahlteiler, die Lichtstrukturierungsvorrichtung und Strahlumlenkelemente können so angeordnet sind, dass mit dem ersten

und dem zweiten Strahlengang zusammen eine geschlossene Schleife gebildet wird, welche vom Transmissionslicht und vom Reflexionslicht in umgekehrter Richtung durchlaufen wird. Das Transmissionslicht trifft demnach, nachdem ihm von der Lichtstrukturierungsvorrichtung eine Struktur aufgeprägt wurde, erneut auf den Polarisationssteiler, allerdings aus derjenigen Richtung, in welche am Polarisationsstrahlteiler das Reflexionslicht abgelenkt wurde. Analog trifft das Reflexionslicht, nachdem ihm von der Lichtstrukturierungsvorrichtung eine Struktur aufgeprägt wurde, erneut auf den Polarisationssteiler, allerdings aus derjenigen Richtung, in welche am Polarisationsstrahlteiler das Transmissionslicht transmittiert wurde. Bei diesem zweiten Auftreffen wird das Transmissionslicht erneut transmittiert und das Reflexionslicht erneut reflektiert, so dass diese beiden auf einem gemeinsamen Strahlengang ausgegeben werden, insbesondere in Richtung einer Probe. Damit Transmissionslicht erneut am Polarisationsstrahlteiler transmittiert wird und Reflexionslicht erneut reflektiert wird, soll sich die Lichtpolarisation beim Durchlaufen der geschlossenen Schleife entweder nicht ändern oder nur vorübergehend ändern, so dass beim zweiten Auftreffen auf den Polarisationsstrahlteiler die Polarisation genauso ist, wie beim erstmaligen Verlassen des Polarisationsstrahlteilers.

[0019] Die Lichtstrukturierungsvorrichtung ist so gestaltet, dass auftreffendem Licht eine räumliche Struktur aufgeprägt wird. Über einen Querschnitt des Lichts wird demnach die Lichtintensität und/oder -phase variabel verändert. Bei einer bevorzugten Ausgestaltung umfasst die Lichtstrukturierungsvorrichtung eine Flüssigkristallmatrix als strukturiertes Element, wobei allgemein auch transmissive oder reflektive Gitter oder Mikrospiegel-Arrays genutzt werden können. Die Flüssigkristallmatrix umfasst mehrere voneinander unabhängig schaltbare Flüssigkristallelemente. Die Flüssigkristallelemente können in einem zweidimensionalen Muster direkt nebeneinander angeordnet sein. Eine solche Flüssigkristallmatrix wird auch als LCoS oder LCoS-SLM bezeichnet (LCoS: Liquid Crystal on Silicon; SLM: Spatial Light Modulator). An die Flüssigkristallelemente kann jeweils eine einstellbare Spannung angelegt werden, wodurch eine Kipprichtung der Flüssigkristallmoleküle des jeweiligen Flüssigkristallelements einstellbar ist. Hierdurch kann eine Phase von auftreffendem Licht einstellbar verändert werden, wobei die Phase innerhalb eines Intervalls prinzipiell beliebig geschoben werden kann. Dabei bestimmt die Polarisationsrichtung des auftreffenden Lichts relativ zur Ausrichtung der Flüssigkristallelemente, ob eine variable Phasenänderung eingestellt werden kann oder nicht. Ist die Lichtpolarisation parallel zu einer Richtung, die nachfolgend als Wirkachse der Flüssigkristallmatrix bezeichnet wird, so kann die Lichtphase variabel verstellt werden, während Licht mit einer Lichtpolarisation senkrecht hierzu unabhängig von einem

Schaltzustand der Flüssigkristallmatrix diese durchläuft, an der Rückseite reflektiert wird und wieder zurückläuft, ohne dass eine Phasenänderung variabel einstellbar wäre. Bei verschiedenen Varianten der Erfindung wird eine solche Flüssigkristallmatrix mit reflektiver Rückseite verwendet, wobei diese Ausführungen auch prinzipiell abgewandelt werden können zu einer transmissiven Flüssigkristallmatrix, die nur einmal vom Licht durchlaufen wird.

[0020] Durch eine Flüssigkristallmatrix kann somit bei geeigneter Lichtpolarisation eine Phase eines auftreffenden Lichtstrahls über den Strahlquerschnitt variabel eingestellt werden. Aus diesem Phasengitter kann in der Probenebene ein Amplitudengitter / eine Amplitudenvariation resultieren, beispielsweise durch Ausblendung von äußeren Lichtanteilen.

[0021] Es kann bevorzugt sein, zwei verschiedene Flüssigkristallbereiche zu nutzen, wobei einer der beiden Flüssigkristallbereiche dem Formen des Transmissionslichts dient und der andere der beiden Flüssigkristallbereiche dem Formen des Reflexionslichts dient. Die beiden Flüssigkristallbereiche können zu verschiedenen Flüssigkristallmatrizen gehören. In diesem Fall können die zwei Flüssigkristallmatrizen zueinander um 90° gedrehte Wirkachsen haben, so dass die unterschiedlichen Polarisationsrichtungen des Transmissionslichts und des Reflexionslichts dazu führen, dass jeweils nur eine der beiden Flüssigkristallmatrizen variabel die Phase des auftreffenden Lichts verändert. Allerdings sind Flüssigkristallmatrizen sehr kostspielig, so dass es bevorzugt sein kann, wenn die beiden Flüssigkristallbereiche verschiedene Bereiche derselben Flüssigkristallmatrix sind.

[0022] Reflexionslicht kann auf dem Strahlengang, der eine geschlossene Schleife ab dem Polarisationsstrahlteiler bildet, zunächst auf den ersten Flüssigkristallbereich und danach auf den zweiten Flüssigkristallbereich geleitet werden. Dabei soll das Reflexionslicht eine Polarisationsrichtung haben, durch welche die Phase des Reflexionslichts nur von einem der beiden Flüssigkristallbereiche variabel beeinflusst wird. Das Transmissionslicht wird hingegen zunächst auf den zweiten Flüssigkristallbereich und danach auf den ersten Flüssigkristallbereich geleitet, wobei es eine Polarisationsrichtung hat, durch welche die Phase des Transmissionslichts wiederum nur von dem anderen der beiden Flüssigkristallbereiche variabel beeinflusst wird. Dass das Transmissionslicht und das Reflexionslicht jeweils nur von einem der beiden Flüssigkristallbereiche variabel beeinflusst werden, kann erreicht werden, indem die Polarisationsrichtung des Transmissionslichts und des Reflexionslichts in geeigneter Weise gedreht wird:

[0023] Hierzu kann ein Polarisationsdreher zum Drehen der Polarisationsrichtung von auftreffendem

Licht um 90° vorhanden und so angeordnet sein, dass er zweimal durchlaufen wird, nämlich direkt vor und direkt nach Auftreffen auf einen der beiden Flüssigkristallbereiche. Durch das zweimalige Auftreffen ist die Polarisationsrichtung schlussendlich gleich wie zuvor, allerdings ist die Polarisationsrichtung beim Auftreffen auf diesen Flüssigkristallbereich um 90° gedreht. So kann bei dieser Ausführung das Transmissionslicht zunächst auf den Polarisationsdreher, dann auf den zweiten Flüssigkristallbereich, dann auf den Polarisationsdreher und dann auf den ersten Flüssigkristallbereich treffen, während das Reflexionslicht in umgekehrter Reihenfolge auf diese Komponenten trifft. Selbstverständlich kann auch hier die Anordnung so abgewandelt werden, dass das Transmissionslicht in umgekehrter Reihenfolge die oben genannten Komponenten durchläuft, während das Reflexionslicht in der genannten Reihenfolge die Komponenten durchläuft.

[0024] Der Polarisationsdreher kann durch ein einziges $\lambda/2$ -Plättchen gebildet sein oder zwei $\lambda/2$ -Plättchen umfassen, von denen das eine $\lambda/2$ -Plättchen vor Auftreffen auf den zweiten Flüssigkristallbereich durchlaufen wird und das andere $\lambda/2$ -Plättchen nach Auftreffen auf den zweiten Flüssigkristallbereich durchlaufen wird. Die $\lambda/2$ -Plättchen sind so angeordnet, dass ihre Kristallachsen parallel sind.

[0025] Es kann bevorzugt sein, dass das Transmissionslicht und das Reflexionslicht jeweils beim ersten Auftreffen auf einen der beiden Flüssigkristallbereiche unbeeinflusst bleiben und erst beim zweiten Auftreffen beeinflusst werden. Die Flüssigkristallbereiche, die Polarisationsrichtungen des Transmissions- und Reflexionslichts sowie gegebenenfalls die optische Achse des Polarisationsdrehers können entsprechend ausgerichtet sein. Dies ist für eine bessere Strahlqualität förderlich.

[0026] In einer Abwandlung der oben beschriebenen Ausführungen wird eine Flüssigkristallmatrix verwendet, mit der einstellbar ist, ob eine Polarisationsrichtung von auftreffendem Licht geändert, insbesondere gedreht wird oder nicht. Hierbei wird ausgenutzt, dass bei geeigneter Orientierung der Flüssigkristallmatrix eine Phasenänderung von nur einer Komponente des auftreffenden Lichts zu einer Polarisationsdrehung dieses Lichts, insbesondere um 90° , oder zu einer Polarisationsänderung zu elliptischer Polarisation führt. Insbesondere zusammen mit einer Halbwellenplatte kann damit vorgegeben werden, ob eine Polarisationsrichtung so ist, dass Transmissions- / Reflexionslicht in Richtung des Probenbereichs weitergeleitet wird oder nicht. Durch eine Phasenänderung mittels der Flüssigkristallmatrix, welche eine elliptische Polarisation bewirkt, können variabel die Anteile eingestellt werden, zu denen das Transmissions- / Reflexionslicht am Polarisationsstrahlteiler reflektiert

und transmittiert wird. So ist eine Amplitudenmodulation möglich.

[0027] Bei dieser Ausführung ist die Flüssigkristallmatrix nicht in einer geschlossenen Schleife als Strahlengang angeordnet. Vielmehr werden das Reflexions- und Transmissionslicht mittels Strahlumlenkelemente auf unterschiedliche Flüssigkristallbereiche vorzugsweise derselben Flüssigkristallmatrix geleitet und sodann auf dem jeweils selben Weg wieder zurück zum Polarisationsstrahlteiler gelenkt. Das Reflexions- und Transmissionslicht können dabei jeweils senkrecht auf die Flüssigkristallbereiche geleitet werden, was für die Strahlqualität förderlich ist. Um sowohl das Reflexions- als auch das Transmissionslicht durch dieselbe Flüssigkristallmatrix geeignet zu beeinflussen, kann vorgesehen sein, dass mit einem Polarisationsdreher die Polarisationsrichtung des Transmissions- und/oder Reflexionslichts vor Auftreffen auf die Flüssigkristallmatrix gedreht wird.

[0028] Das Reflexionslicht läuft also vom Polarisationsstrahlteiler auf einem ersten Strahlengang über einen Polarisationsdreher zu einem Flüssigkristallbereich der Flüssigkristallmatrix und auf demselben ersten Strahlengang wieder zurück zum Polarisationsstrahlteiler. Die Flüssigkristallmatrix ist dabei so angeordnet, dass je nach Schaltzustand ihrer Flüssigkristallelemente keine oder eine variabel einstellbare Polarisationsänderung bewirkt wird. Insbesondere kann eine Polarisationsdrehung um 90° oder eine Änderung von linearer Polarisation zu zirkularer oder elliptischer Polarisation bewirkt werden. Zusammen mit dem Polarisationsdreher kann dadurch je nach Schaltzustand der Flüssigkristallelemente eine Polarisationsrichtung des Reflexionslichts um 90° oder 0° gedreht werden, so dass das von der Flüssigkristallmatrix zurückkommende Reflexionslicht einstellbar am Polarisationsstrahlteiler in Richtung eines Probenbereichs transmittiert wird oder in Richtung der Lichtquelle reflektiert wird, beziehungsweise bei elliptischer Polarisation zu variablen Anteilen, die durch die Flüssigkristallmatrix einstellbar sind, transmittiert und reflektiert wird. Der optionale Polarisationsdreher kann ein $\lambda/2$ -Plättchen sein, dessen optische Achse in einem Winkel von $22,5^\circ$ zum Transmissions- oder Reflexionslicht und entsprechend in einem Winkel von $67,5^\circ$ zum anderen des Transmissions- oder Reflexionslichts stehen kann. Eine Ausrichtung der Flüssigkristallmatrix kann parallel zur ursprünglichen Polarisationsrichtung des Transmissions- oder Reflexionslichts stehen, womit je nach Schaltzustand der Flüssigkristallelemente eine Polarisationsdrehung von 90° oder keine Polarisationsdrehung des auftreffendes Lichts (das durch den Polarisationsdreher bereits gedreht wurde) erreicht wird, oder eine Polarisationsänderung zu elliptischer Polarisation.

[0029] In analoger Weise läuft das Transmissionslicht vom Polarisationsstrahlteiler auf einem zweiten Strahlengang über fakultativ den Polarisationsdreher oder einen zusätzlichen Polarisationsdreher zu einem anderen Flüssigkristallbereich der Flüssigkristallmatrix. Auf demselben zweiten Strahlengang läuft es wieder zurück zum Polarisationsstrahlteiler. Dabei ist die Flüssigkristallmatrix so angeordnet, dass je nach Schaltzustand ihrer Flüssigkristallelemente eine Polarisationsdrehung, keine Polarisationsdrehung oder eine Änderung zu elliptischer Polarisation bewirkt wird. Auf dem Rückweg zum Polarisationsstrahlteiler ist nach dem Polarisationsdreher je nach Schaltzustand der Flüssigkristallelemente eine Polarisationsrichtung des Transmissionslichts um 90° oder 0° gedreht, oder elliptisch polarisiert. Das von der Flüssigkristallmatrix zurückkommende Transmissionslicht wird dadurch am Polarisationsstrahlteiler wahlweise in Richtung der Lichtquelle transmittiert, oder in Richtung des Probenbereichs reflektiert (auf einen gemeinsamen Strahlengang mit transmittiertem Reflexionslicht), oder bei elliptischer Polarisation teilweise reflektiert und teilweise transmittiert.

[0030] Der erste und zweite Strahlengang haben vorzugsweise die gleiche optische Weglänge.

[0031] Die vorbeschriebene Variante kann auch so abgewandelt werden, dass keine Halbwellenplatte erforderlich ist. Hierbei kann die Ausrichtung der Flüssigkristallmatrix in einem Winkel von 45° zu sowohl der Polarisationsrichtung des Reflexionslichts als auch der Polarisationsrichtung des Transmissionslichts gesetzt sein. Abhängig von einem An- oder Aus-Zustand der Flüssigkristallelemente erfolgt dadurch eine 90° -Polarisationsdrehung oder keine Polarisationsdrehung an der Flüssigkristallmatrix. So kann auch hier eingestellt werden, ob zurückgeworfenes Transmissions-/Reflexionslicht am Polarisationsstrahlteiler weiter in Richtung zur Probe oder zurück in Richtung zur Lichtquelle geleitet wird. Über Zwischenzustände der Flüssigkristallelemente kann wiederum eine variable elliptische Polarisation eingestellt werden, womit eine teilweise Reflektion und teilweise Transmission am Polarisationsstrahlteiler erfolgt.

[0032] Eine aufgeprägte Strukturierung kann eine über einen Querschnitt des Reflexions- oder Transmissionslichts variierende Polarisation aufweisen. Für verschiedene Pixel/Abschnitte des Strahlquerschnitts kann demnach unabhängig von den übrigen Pixeln/Abschnitten eine Polarisationsrichtung um 0° oder 90° gedreht werden oder die Polarisation zu elliptischer Polarisation geändert werden. Die Lichtstrukturierungsvorrichtung bestimmt somit, welche Teile des Reflexions- und Transmissionslichts auf den gemeinsamen Strahlengang weitergeleitet werden, während die übrigen Teile in Richtung des

AOTF/EOM zurückgeleitet werden. Dadurch entsteht ein amplitudenmoduliertes Beleuchtungsmuster.

[0033] Anstelle oder zusätzlich zu einem $\lambda/2$ -Plättchen können auch ein Faraday-Rotator im Strahlengang des Transmissionslichts und/oder ein Faraday-Rotator im Strahlengang des Reflexionslichts eingesetzt werden. Durchläuft Licht den Faraday-Rotator auf einem Hin- und Rückweg, wird hierbei die Polarisationsrichtung des Lichts zweimal in dieselbe Richtung weitergedreht, im Gegensatz zu einem $\lambda/2$ -Plättchen, welches die Polarisationsrichtung von Licht auf dem Rückweg wieder zurückdreht. Der Faraday-Rotator kann so eingestellt werden, dass bei zweimaligem Durchlaufen eine Polarisationsdrehung von 90° bewirkt wird, so dass Transmissionslicht anschließend am Polarisationsstrahlteiler reflektiert wird, beziehungsweise Reflexionslicht anschließend am Polarisationsstrahlteiler transmittiert wird. Die Flüssigkristallbereiche können dann genutzt werden, um dem Licht über seinen Querschnitt ein Phasenmuster aufzuprägen, so dass insbesondere in einer Probenebene eine phasenmodulierte Beleuchtung bereitgestellt wird.

[0034] Mit der Erfindung können zwei Beleuchtungen unterschiedlicher Wellenlänge gleichzeitig moduliert und zu einem Probenbereich geleitet werden. Es ist aber auch möglich, für farbsequentielle Messungen zwei oder mehr verschiedene Wellenlängen nacheinander, und nicht zwingend gleichzeitig, zum Probenbereich zu leiten. Es kann ein zusätzlicher AOTF vorm Polarisationsstrahlteiler vorhanden sein, womit Beleuchtungslicht beide AOTF durchläuft. Der zusätzliche AOTF kann für farbsequentielle Messungen schnell zwischen verschiedenen Wellenlängen durchschalten, für die an den zwei Bereichen der Flüssigkristallmatrix verschiedene Strukturierungen bereitgestellt werden.

[0035] Die Erfindung betrifft auch ein Lichtmikroskop mit einer Optikanordnung, die wie hier beschrieben gestaltet sein kann. Das Lichtmikroskop umfasst einen Lichtquellenanschluss. An diesen kann eine Lichtquelle angekoppelt sein, beispielsweise mehrere Laser oder eine breitbandige Lichtquelle. Der Lichtquellenanschluss ist so gestaltet, dass bei Anschluss einer Lichtquelle deren Licht den hier beschriebenen Strahlengang durchläuft. Zudem kann das Lichtmikroskop einen Detektoranschluss umfassen, an welchen ein Lichtdetektor angeschlossen sein kann. Dieser kann als räumlich auflösende Kamera gestaltet sein.

[0036] Die als zusätzliche Optikanordnungsmerkmale beschriebenen Eigenschaften der Erfindung ergeben bei bestimmungsgemäßem Gebrauch auch Varianten des erfindungsgemäßen Verfahrens. Umgekehrt können die beschriebenen Komponenten der

Optikanordnung auch dazu eingerichtet sein, die Verfahrensvarianten auszuführen.

[0037] Weitere Vorteile und Merkmale der Erfindung werden nachstehend mit Bezug auf die beigefügten schematischen Figuren beschrieben. Hierin zeigen:

Fig. 1 eine schematische Darstellung eines ersten Ausführungsbeispiels eines erfindungsgemäßen Lichtmikroskops;

Fig. 2 eine schematische Darstellung von Komponenten eines Ausführungsbeispiels einer erfindungsgemäßen Optikanordnung; und

Fig. 3 eine schematische Darstellung eines weiteren Ausführungsbeispiels eines erfindungsgemäßen Lichtmikroskops.

[0038] Gleiche und gleich wirkende Bestandteile sind in den Figuren in der Regel mit denselben Bezugszeichen gekennzeichnet.

[0039] **Fig. 1** zeigt ein Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Optikanordnung **100**, welche Teil eines erfindungsgemäßen Lichtmikroskops **110** ist.

[0040] Das Lichtmikroskops **110** umfasst eine hier nicht näher dargestellte Lichtquelle **1**, welche Beleuchtungslicht **2** aussendet. Die Lichtquelle **1** kann beispielsweise mehrere Laser umfassen, deren Strahlengänge durch eine Spiegeltreppe auf einen gemeinsamen Strahlengang zusammengeführt werden.

[0041] Die Optikanordnung **100** umfasst eine Lichtstrukturierungsvorrichtung **30**, welche dem Beleuchtungslicht eine Struktur aufprägt. Das in dieser Weise strukturierte Licht **52** wird über Optikkomponenten **80**, welche insbesondere ein Objektiv **81** umfassen können, zu einem Probenbereich **83** geleitet.

[0042] Licht, das von einer Probe im Probenbereich **83** zurückgeworfen wird, wird als Probenlicht **93** bezeichnet und kann beispielsweise Lumineszenzlicht, das heißt Fluoreszenzlicht oder Phosphoreszenzlicht, sein. Es kann über dasselbe Objektiv **81** geleitet werden und anschließend durch einen Strahlteiler **90** vom Strahlengang des Beleuchtungslichts **52** getrennt werden, ehe es durch einen Detektor **95** nachgewiesen wird.

[0043] Zunächst trifft das Beleuchtungslicht **2** auf einen AOTF **5**. Dieser kann einen Lichtanteil des Beleuchtungslichts **2** mit einer bestimmten auswählbaren Wellenlänge in eine erste Beugungsordnung ablenken. Ein anderer Lichtanteil des Beleuchtungslichts kann in Richtung einer nullten Beugungsordnung den AOTF **5** durchqueren. Diese beiden Lichtanteile unterscheiden sich nicht nur in ihrer Wellenlänge, sondern auch in ihrer Polarisierung, da bei der

Ablenkung in die Richtung der ersten Beugungsordnung die Lichtpolarisation um 90° gedreht wird.

[0044] Anstelle des dargestellten AOTF kann auch ein EOM verwendet werden. Über eine Beleuchtungseinheit werden dem EOM zeitmoduliert, das heißt zeitlich nacheinander, zwei Lichtstrahlen (nachfolgend: Lichtanteile) zugeführt, welche sich in ihren Wellenlängen unterscheiden. Der EOM kann die Polarisationsrichtung des ersten Lichtanteils drehen und sodann durch eine Steuereinheit so umgeschaltet werden, dass die Polarisierung des zeitlich nachfolgenden Lichtanteils in eine andere Richtung gedreht wird, so dass die beiden Lichtanteile insbesondere eine zueinander senkrechte Polarisierung haben.

[0045] Diese beiden Lichtanteile unterschiedlicher Polarisierung werden nun vom AOTF/EOM zu einem Polarisationsstrahlteiler **10** geleitet. Dieser trennt die beiden Lichtanteile in Reflexionslicht **12A** und Transmissionslicht **12B**. Reflexionslicht **12A** wird auf einen ersten Strahlengang **11A** reflektiert und (insbesondere gleichzeitig) wird Transmissionslicht **12B** auf einen zweiten Strahlengang **11B** transmittiert.

[0046] Das Transmissionslicht **12B** wird über Strahlumlenkelemente **17**, beispielsweise ein oder mehrere Spiegel oder Prismen, zur Lichtstrukturierungsvorrichtung **30** geleitet.

[0047] Die Lichtstrukturierungsvorrichtung **30** umfasst hier eine Flüssigkristallmatrix **35** als strukturiertes Element. Eine solche Flüssigkristallmatrix **35** wird auch als LCoS bezeichnet (Liquid Crystal on Silicon). Auftreffendes Licht durchläuft die Flüssigkristallmatrix **35**, wird an deren Rückseite reflektiert (das heißt insbesondere am Silizium-Chip) und durchläuft nochmals die Flüssigkristallmatrix **35**, ehe es austritt. Eine Amplitudenmodulation des auftreffenden Lichts wird hiermit allein noch nicht erreicht, wohl aber eine Phasenmodulation. Die Flüssigkristallmatrix **35** umfasst mehrere Flüssigkristallelemente, die doppelbrechend sind und unabhängig voneinander eingestellt werden können. Je nach Einstellung kann ein Flüssigkristallelement die Phase von auftreffendem Licht variabel verändern, aber nur, wenn die Polarisationsrichtung des auftreffenden Lichts geeignet zur Flüssigkristallmatrix steht. Bei senkrechter Polarisationsrichtung hierzu wird das Licht hingegen weitergeleitet, ohne dass Schaltzustände der Flüssigkristallelemente einen Einfluss auf eine Phasenänderung des Lichts hätten.

[0048] Im Beispiel von **Fig. 1** treffen das Reflexionslicht **12A** und das Transmissionslicht **12B** auf dieselbe Flüssigkristallmatrix **35**. Da das Reflexionslicht **12A** und das Transmissionslicht **12B** zueinander senkrecht linear polarisiert sind, würde ohne weitere Maßnahmen nur entweder das Reflexions- oder das Transmissionslicht variabel phasen-

moduliert werden. Damit sowohl das Reflexions- als auch das Transmissionslicht variabel phasenmoduliert werden können, wird ein Polarisationsdreher **28** eingesetzt. Dieser kann eine $\lambda/2$ -Platte sein, die so ausgerichtet ist, dass sie die Polarisation von auftretendem Transmission- oder Reflexionslicht um 90° dreht. Dies ist in dem Figureneinschub in **Fig. 1** gezeigt: Die optische Achse **28A** steht in einem Winkel von 45° zur Polarisationsrichtung **61B** des Transmissionslichts vor Auftreffen auf die Halbwellenplatte **28**, so dass die Polarisationsrichtung **61B** um 90° gedreht wird zur Polarisationsrichtung **62B**. Für das Reflexionslicht ist die Polarisationsdrehung an der Halbwellenplatte gerade umgekehrt zum beschriebenen Fall.

[0049] Im dargestellten Beispiel trifft das Reflexionslicht **12A** zunächst auf einen ersten Flüssigkristallbereich **35A** der Flüssigkristallmatrix **35**. Anschließend wird es über ein Umlenkelement **18**, beispielsweise einen Spiegel oder ein Prisma, abgelenkt und wird ein zweites Mal auf die Flüssigkristallmatrix **35** gelenkt, nämlich auf einen zweiten Flüssigkristallbereich **35B**, welcher insbesondere verschieden oder nicht überlappend zum ersten Flüssigkristallbereich **35A** sein kann. Bevor das Reflexionslicht **12A** aber das zweite Mal auf die Flüssigkristallmatrix **35** trifft, trifft es auf den Polarisationsdreher **28**, der die Polarisationsrichtung um 90° dreht. Das Reflexionslicht **12A** hat dadurch beim zweiten Auftreffen eine andere Polarisation als beim ersten Auftreffen. Somit wird das Reflexionslicht **12A** nur entweder beim ersten oder beim zweiten Auftreffen variabel phasenmoduliert, während es beim anderen Auftreffen keine Phasenmodulation erfährt.

[0050] Nach dem zweiten Auftreffen auf die Flüssigkristallmatrix **35** durchläuft das Reflexionslicht **12A** erneut den Polarisationsdreher **28**, womit die Polarisationsrichtung wieder zurückgedreht wird.

[0051] Das Transmissionslicht **12B** durchläuft denselben Strahlengang wie das Reflexionslicht **12A**, aber in umgekehrter Richtung. Somit trifft das Transmissionslicht **12B** zunächst auf den Polarisationsdreher **28**, bevor es am Flüssigkristallbereich **35B** erstmalig auf die Flüssigkristallmatrix **35** trifft. Anschließend durchläuft es wieder den Polarisationsdreher **28** und trifft dann auf den Flüssigkristallbereich **35A**.

[0052] Das Reflexionslicht **12A** wird demnach nur vom ersten oder zweiten Flüssigkristallbereich **35A** oder **35B** phasenmoduliert, während das Transmissionslicht **12B** vom anderen der beiden Flüssigkristallbereiche phasenmoduliert wird. Dadurch können dem Reflexionslicht **12A** und dem Transmissionslicht **12B** unterschiedliche Phasenmodulationen aufgebracht werden.

[0053] Die Flüssigkristallelemente des ersten und zweiten Flüssigkristallbereichs **35A**, **35B** können so eingestellt werden, dass sie Phasengitter erzeugen. Bei dem Ausführungsbeispiel von **Fig. 1** sind die Flüssigkristallbereiche **35A**, **35B** in einer Pupillenebene angeordnet, womit in einer Probenebene (oder einer hierzu konjugierten Ebene) ein Lichtmuster erzeugt wird, das über eine FourierTransformation mit dem Lichtmuster, das in der Pupillenebene erzeugt wird, zusammenhängt. Aus dem Phasenmuster in der Pupillenebene wird daher in einer Probenebene (oder dazu konjugierten Ebene) ein Amplitudengitter. Um ein gewünschtes Amplitudengitter bereitzustellen, das heißt eine gewünschte gitterförmige Intensitätsverteilung in der Probenebene, kann eine Steuereinheit über einen IFTA (iterativen Fourier-Transformationsalgorithmus) das gewünschte Phasenmuster in der Pupillenebene berechnen und die Flüssigkristallbereiche entsprechend einstellen.

[0054] Die in **Fig. 1** dargestellte Variante kann auch so abgewandelt werden, dass die Flüssigkristallbereiche nicht in einer Pupillenebene angeordnet sind, sondern in einer Zwischenbildebene bzw. einer zur Probenbildebene konjugierten Ebene. In dem Fall kann das erzeugte Phasenmuster auch als Phasenmuster in die Probenebene abgebildet werden. Hierbei kann aber auch in anderer Weise ein Amplitudengitter in der Probenebene bewirkt werden: So kann eine Gitterkonstante des Phasengitters so gewählt werden, dass höhere Beugungsordnungen nicht von den Optikkomponenten **80** bis zum Probenbereich **83** geleitet werden, sondern vorher ausgeblendet werden. Allein beispielsweise eine $-1.$, $0.$ und $+1.$ Beugungsordnung werden bis zum Probenbereich **83** geleitet. Dadurch wird in der Probenebene aus dem ursprünglichen Phasengitter ein Amplitudengitter, also eine Intensitätsmodulation.

[0055] Der Strahlengang bildet ab dem Polarisationsstrahlteiler **10** eine geschlossene Schleife, die über die Strukturierungsvorrichtung **30** verläuft. Hierbei durchlaufen das Reflexionslicht **12A** und das Transmissionslicht **12B** die geschlossene Schleife in umgekehrter Richtung.

[0056] Weil die Polarisation des Transmissionslichts **12B** beim erneuten Auftreffen auf dem Polarisationsstrahlteiler **10** gleich ist wie beim früheren Verlassen des Polarisationsstrahlteilers, wird das Transmissionslicht **12B** in Richtung des Probenbereichs **83** transmittiert, und nicht etwa in Richtung der Lichtquelle **1** reflektiert.

[0057] In analoger Weise hat das Reflexionslicht **12A** beim erneuten Auftreffen auf dem Polarisationsstrahlteiler **10** die gleiche Polarisation wie beim früheren Verlassen des Polarisationsstrahlteilers und wird deshalb erneut reflektiert. Damit gelangt das Reflexi-

onslicht **12A** auf einen gemeinsamen Strahlengang **55** mit dem Transmissionslicht **12B**.

[0058] Das strukturierte Transmissionslicht **12B** und das strukturierte Reflexionslicht **12A**, das heißt die beiden manipulierten Lichtanteile unterschiedlicher Wellenlänge, verlaufen nun auf einem gemeinsamen Strahlengang **55** und konnten unabhängig voneinander ein gewünschtes Phasen- oder Intensitätsmuster erhalten.

[0059] Als erster Strahlengang **11A**, auf den das Reflexionslicht **12A** ab dem Polarisationsstrahlteiler **10** geleitet wird, kann ein Strahlengang verstanden werden, den das Reflexionslicht **12A** bis zum strukturierten Element durchläuft. Als zweiter Strahlengang **11B**, auf den das Transmissionslicht **12B** ab dem Polarisationsstrahlteiler **10** geleitet wird, kann in entsprechender Weise ein Strahlengang verstanden werden, den das Transmissionslicht **12B** bis zum strukturierten Element durchläuft. Das Transmissionslicht **12B** läuft auf dem ersten Strahlengang **11A** zum Polarisationsstrahlteiler **10**, und das Reflexionslicht **12A** läuft auf dem zweiten Strahlengang **11B** zum Polarisationsstrahlteiler **10**.

[0060] Fakultativ kann auf die Strahlumlenkelemente **16** oder **17** verzichtet werden, oder diese können an anderer Stelle in dem Strahlengang, der die geschlossene Schleife bildet, angeordnet sein.

[0061] Bei einer Abwandlung der abgebildeten Ausführung kann die dargestellte Flüssigkristallmatrix **35** durch zwei Flüssigkristallmatrizen ersetzt werden. Sind diese Flüssigkristallmatrizen in ihrer Wirkrichtung senkrecht zueinander angeordnet, kann auf den Polarisationsdreher verzichtet werden. Da Flüssigkristallmatrizen jedoch sehr teuer sind, ist diese Ausführung mit höheren Kosten verbunden.

[0062] Fig. 2 zeigt in einer schematischen Aufsicht Komponenten einer erfindungsgemäßen Optikanordnung **100**, die im Wesentlichen gleich wie die Optikanordnung aus Fig. 1 sein kann. In Fig. 2 sind mit Pfeilen die Ausbreitungsrichtungen des Beleuchtungslichts **2**, des Reflexionslichts **12A** und des Transmissionslichts **12B** gezeigt. Zudem sind hier teilweise die Polarisationsrichtungen angegeben. Das Beleuchtungslicht **2** umfasst die beiden Lichtanteile **2A**, **2B** unterschiedlicher Wellenlänge, welche die angegebenen unterschiedlichen Polarisationen haben. Zudem sind die Polarisationsrichtungen des Transmissionslichts **12B**, welches dem Lichtanteil **2B** entspricht, auf den verschiedenen Strahlengangabschnitten angegeben. Wie dargestellt, ändert sich durch den Polarisationsdreher **28** die Polarisationsrichtung zweimal. Die Polarisationsrichtung des Reflexionslichts **12A** ist auf jedem Strahlengangabschnitt jeweils senkrecht zu der des Transmissionslichts **12B** und ist zur Übersichtlichkeit nicht

in Fig. 2 eingetragen. Auf dem gemeinsamen Strahlengang **55** sind beide Polarisationsrichtungen des Reflexionslichts **12A** (Lichtanteil **2A**) und des Transmissionslichts **12B** (Lichtanteil **2B**) eingetragen.

[0063] Ein weiteres Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Optikanordnung **100**, die Teil eines erfindungsgemäßen Lichtmikroskops **110** sein kann, ist in Fig. 3 gezeigt.

[0064] Komponenten, die gleich wie in Fig. 1 oder Fig. 2 gestaltet sind, sind mit gleichen Bezugszeichen gekennzeichnet und werden hier nicht nochmals beschrieben. Die beiden Lichtanteile unterschiedlicher Wellenlänge und Polarisation werden auch hier durch einen Polarisationsstrahlteiler **10** auf verschiedene Strahlengänge **11A** und **11B** geteilt. Allerdings bilden die beiden Strahlengänge **11A** und **11B** keine geschlossene Schleife. Vielmehr läuft Reflexionslicht **12A** auf dem Strahlengang **11A** bis zu einem ersten Bereich **35A** der Flüssigkristallmatrix **35** und auf demselben Strahlengang **11A** wieder zurück zum Polarisationsstrahlteiler **10**. Analog läuft Transmissionslicht **12B** auf dem zweiten Strahlengang **11B** bis zu einem zweiten Bereich **35B** der Flüssigkristallmatrix **35** und auf demselben Strahlengang **11B** wieder zurück zum Polarisationsstrahlteiler **10**. Verschiedene Seiten eines gemeinsamen Umlenkelements **19** können in den beiden Strahlengängen **11A** und **11B** eingesetzt werden, so dass das Transmissions- und Reflexionslicht **12A**, **12B** nah nebeneinander und parallel zur Flüssigkristallmatrix **35** laufen und senkrecht auf diese treffen.

[0065] Die Flüssigkristallmatrix **35** steht hier in einer Zwischenbildebene, wobei der Aufbau auch so modifiziert werden kann, dass die Flüssigkristallmatrix **35** in einer Pupillenebene angeordnet ist.

[0066] Damit das Reflexionslicht **12A** und das Transmissionslicht **12B** am Polarisationsstrahlteiler **10** nicht wieder zurück zum AOTF **5** laufen, müssen sich die Polarisation des Reflexionslichts **12A** auf dem Strahlengang **11A** und die Polarisation des Transmissionslichts **12B** auf dem Strahlengang **11B** um 90° ändern. Dies wird durch einen Polarisationsdreher **29** zusammen mit der Flüssigkeitsmatrix **35** erreicht. Der Polarisationsdreher **29** ist hier eine Halbwellenplatte ($\lambda/2$ -Platte), deren Abmessungen groß genug sind, dass sie sowohl im Strahlengang **11A** als auch im Strahlengang **11B** angeordnet ist. Die Polarisation des Reflexionslichts **12A** ist in den Figurenabschnitten **70A**, **71A** und **72A** gezeigt. **70A** zeigt die optische Achse **29A** der Halbwellenplatte **29** sowie die Polarisationsrichtung **80A** des Reflexionslichts bevor es die Halbwellenplatte **29** durchläuft sowie die dadurch um insbesondere 135° gedrehte Polarisationsrichtung **81A** des Reflexionslichts. Figurenabschnitt **71A** zeigt, wie sich diese Polarisationsrichtung **81A** durch die Flüssigkristallmatrix **35** ändern kann.

Diese ist so ausgerichtet, dass sie je nach Schaltzustand der Flüssigkristallelemente eine Polarisationsänderung, insbesondere -drehung, durchführt. Ist ein Flüssigkristallelement in einem Aus-Zustand, variiert es nicht variabel die Phase und die Polarisationsrichtung bleibt gleich, das heißt die Polarisationsrichtung bleibt unverändert **81A**. In einem An-Zustand verzögert hingegen das Flüssigkristallelement die Phase der Polarisationskomponente, die in Figurabschnitt **71A** in horizontaler Richtung liegt; daraus resultiert, dass die Polarisationsrichtung auf **82A** gedreht werden kann, insbesondere wenn die horizontale Polarisationskomponente von **81A** um eine halbe Wellenlänge (oder um ein ganzzahliges Vielfaches der Wellenlänge plus eine halbe Wellenlänge) relativ zur vertikalen Polarisationskomponente verschoben wird. Das Flüssigkristallelement kann auch auf verschiedene Zwischenzustände eingestellt werden, bei denen eine andere Phasenverschiebung eingestellt wird (nicht dargestellt). Daraus folgt eine elliptische Polarisation. Im dargestellten Fall läuft nun das Reflexionslicht zurück von der Flüssigkristallmatrix zur Halbwellenplatte, wo die Polarisationsrichtung erneut gedreht wird, wie in Figurabschnitt **72A** gezeigt: Aufgrund der Ausrichtung **29A** der optischen Achse **29** wird für ein Flüssigkristallelement im An-Zustand die Polarisationsrichtung **82A** um 45° gedreht zu **84A**, das heißt die Polarisationsrichtung steht 90° zum ursprünglichen Polarisationszustand. Damit wird das Reflexionslicht nun am Polarisationsstrahlteiler transmittiert. Hingegen wird für ein Flüssigkristallelement im Aus-Zustand die Polarisationsrichtung **81A** um $67,5^\circ$ gedreht zu **83A**, das heißt die Polarisationsrichtung ist wieder im Ursprungszustand. Dieser Teil des Reflexionslichts wird daher am Polarisationsstrahlteiler zurück Richtung Lichtquelle reflektiert und gelangt nicht auf den gemeinsamen Strahlengang **55**.

[0067] Für das Transmissionslicht sind die entsprechenden Situationen in den Figurabschnitten **70B**, **71B** und **72B** gezeigt. Die Polarisationsrichtung **80B** des Transmissionslichts steht zunächst in einem Winkel von $22,5^\circ$ zur Ausrichtung **29A** der Halbwellenplatte und wird daher um 45° in die Polarisationsrichtung **81B** gedreht. Nun trifft das Transmissionslicht auf die Flüssigkristallmatrix, wo bei einem Aus-Zustand eines Flüssigkristallelements die Polarisationsrichtung **81B** unverändert bleibt (siehe Figurabschnitt **71B**) oder bei einem An-Zustand des Flüssigkristallelements gedreht wird auf **82B**. Wenn das Transmissionslicht erneut auf die Halbwellenplatte trifft, wird die Polarisationsrichtung **81B** um 45° gedreht in die Richtung **83B**, welche wie in Figurabschnitt **72B** gezeigt gerade der ursprünglichen Polarisation **80B** entspricht. Das heißt, in diesem Fall wird Transmissionslicht erneut am Polarisationsstrahlteiler transmittiert, in Richtung der Lichtquelle. Hingegen steht die Polarisationsrichtung **82B**, die bei einem An-Zustand eines Flüssigkristallelements erzeugt wird, in einem Winkel von $67,5^\circ$ zur Halbwellenplatte und wird da-

her von dieser um 135° gedreht, so dass die resultierende Polarisationsrichtung **84B** senkrecht zur ursprünglichen Polarisation **80B** steht und das Transmissionslicht nun am Polarisationsstrahlteiler reflektiert wird, auf den gemeinsamen Strahlengang **55**.

[0068] Daher kann die Flüssigkristallmatrix zusammen mit dem Polarisationsstrahlteiler und dem Polarisationsdreher dem ersten und dem zweiten Lichtanteil jeweils eine über den jeweiligen Strahlquerschnitt variabel einstellbare Intensitätsverteilung aufprägen. Vorteilhafterweise erfolgt dies für beide Lichtanteile unabhängig und schnelle Änderungen der Intensitätsverteilungen sind durch die Flüssigkristallmatrix möglich, ohne dass zeitaufwändigere Verschiebungen oder Drehungen von Komponenten nötig wären.

[0069] In einer Abwandlung der Ausführung von **Fig. 3** kann auf die Halbwellenplatte verzichtet werden, insbesondere wenn die Ausrichtung der Flüssigkristallmatrix in einem Winkel von 45° zu sowohl der Polarisationsrichtung des Reflexionslichts als auch der Polarisationsrichtung des Transmissionslichts steht. In diesem Fall kann auch abhängig von einem An- oder Aus-Zustand der Flüssigkristallelemente eine 90° -Polarisationsdrehung oder keine Polarisationsdrehung an der Flüssigkristallmatrix erreicht werden. Demgemäß kann auch hier eingestellt werden, ob zurückgeworfenes Transmissions-/Reflexionslicht am Polarisationsstrahlteiler weiter in Richtung zur Probe oder zurück in Richtung zur Lichtquelle geleitet wird.

Bezugszeichenliste

1	Lichtquelle
2	Beleuchtungslicht
5	AOTF
10	Polarisationsstrahlteiler
11A	erster Strahlengang
11B	zweiter Strahlengang
12A	Reflexionslicht
12B	Transmissionslicht
16, 17, 18, 19	Umlenkelemente
28	Polarisationsdreher, Halbwellenplatte
28A	optische Achse der Halbwellenplatte 28
29	Polarisationsdreher, Halbwellenplatte
29A	optische Achse der Halbwellenplatte 29

30	Lichtstrukturierungs- vorrichtung	scheiden, oder mit einem EOM, mit dem zwei zeitlich aufeinander folgende Lichtanteile (2A, 2B) unterschiedlicher Wellenlänge auf verschiedene Polarisationsrichtungen eingestellt werden, gekennzeichnet durch:
35	Flüssigkristallmatrix	
35A	erster Bereich der Flüssigkristallmatrix	- einen Polarisationsstrahlteiler (10), der so angeordnet ist, dass die beiden Lichtanteile unterschiedlicher Wellenlänge und Polarisation des AOTF (5) oder EOM auf ihn treffen und polarisationsabhängig getrennt werden in Reflexionslicht (12A), das am Polarisationsstrahlteiler (10) reflektiert wird, und Transmissionslicht (12B), das am Polarisationsstrahlteiler (10) transmittiert wird, und
35B	zweiter Bereich der Flüssigkristallmatrix	- eine Lichtstrukturierungsvorrichtung (30), mit welcher dem Transmissionslicht (12B) und dem Reflexionslicht (12A) verschiedene Strukturierungen aufprägar sind,
52	strukturiertes Beleuchtungslicht	- wobei der Polarisationsstrahlteiler (10) oder ein weiterer Polarisationsstrahlteiler so angeordnet ist, dass er das strukturierte Transmissionslicht (12B) und das strukturierte Reflexionslicht (12A) auf einen gemeinsamen Strahlengang (55) zusammenführt.
55	gemeinsamer Strahlengang	
61B	Polarisationsrichtung des Transmissionslichts vor Durchlaufen des Polarisationsdrehers 28	
62B	Polarisationsrichtung des Transmissionslichts nach Durchlaufen des Polarisationsdrehers 28	
70A, 71A, 72A	Schaubilder zur Polarisationsänderung des Reflexionslichts	2. Optikanordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,
70B, 71B, 72B	Schaubilder zur Polarisationsänderung des Transmissionslichts	dass Optikkomponenten zum gemeinsamen Weiterleiten der zwei Lichtanteile auf einem gemeinsamen Strahlengang vom AOTF (5) oder EOM zum Polarisationsstrahlteiler (10) vorgesehen sind,
80	Optikkomponenten	dass die Optikkomponenten so angeordnet sind, dass die gemeinsam weitergeleiteten Lichtanteile Licht einer nullten Beugungsordnung sowie einer ersten Beugungsordnung des AOTF oder EOM umfassen.
80A, 81A, 82A, 83A, 84A	Polarisationsrichtungen des Reflexionslichts	3. Optikanordnung nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Optikkomponenten eine Dispersion aufweisen, durch welche ein Unterschied in den Ausbreitungsrichtungen der zwei Lichtanteile (2A, 2B) reduziert wird.
80B, 81B, 82B, 83B, 84B	Polarisationsrichtungen des Transmissionslichts	
83	Probenbereich	4. Optikanordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Lichtstrukturierungsvorrichtung (30) mindestens eine Flüssigkristallmatrix (35) umfasst, welche mehrere voneinander unabhängig schaltbare Flüssigkristallelemente aufweist, mit denen eine Phase von auftreffendem Transmissionslicht (12B) und Reflexionslicht (12A) einstellbar veränderbar ist.
90	Strahlteiler	
93	Probenlicht	
95	Detektor	
100	Optikanordnung	
110	Lichtmikroskop	5. Optikanordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass der Polarisationsstrahlteiler (10), die Lichtstrukturierungsvorrichtung (30) und Strahlumlenkelemente (16, 17) so angeordnet sind, dass diese eine geschlossene Schleife als Strahlengang bilden, welcher vom Transmissionslicht (12B) und Reflexionslicht (12A) in umgekehrter Richtung durchlaufen wird.

Patentansprüche

1. Optikanordnung zur flexiblen Mehrfarbbeleuchtung für ein Lichtmikroskop
- mit einem AOTF (5), welcher dazu eingerichtet ist, zwei Lichtanteile von auftreffendem Beleuchtungslicht (2) in unterschiedliche Beugungsordnungsrichtungen zu beugen, wobei sich die zwei Lichtanteile (2A, 2B) in ihrer Wellenlänge und Polarisation unter-

6. Optikanordnung nach Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet**,

dass die mindestens eine Flüssigkristallmatrix (50) einen ersten und einen zweiten Flüssigkristallbereich (35A, 35B) umfasst,

wobei das Reflexionslicht (12A) auf dem Strahlengang, der eine geschlossene Schleife ab dem Polarisationsstrahlteiler (10) bildet, zunächst auf den ersten Flüssigkristallbereich (35A) und danach auf den zweiten Flüssigkristallbereich (35B) geleitet wird und dabei eine Polarisationsrichtung hat, durch welche die Phase des Reflexionslichts (12A) nur von einem der beiden Flüssigkristallbereiche (35B) variabel beeinflusst wird,

wobei das Transmissionslicht (12B) zunächst auf den zweiten Flüssigkristallbereich (35B) und danach auf den ersten Flüssigkristallbereich (35A) geleitet wird und dabei eine Polarisationsrichtung hat, durch welche die Phase des Transmissionslichts (12B) nur von dem anderen der beiden Flüssigkristallbereiche (35A) variabel beeinflusst wird.

7. Optikanordnung nach einem der Ansprüche 4 bis 6, **dadurch gekennzeichnet**,

dass der erste und zweite Flüssigkristallbereich (35A, 35B) Bereiche derselben Flüssigkristallmatrix (35) sind,

dass ein Polarisationsdreher (28) zum Drehen der Polarisationsrichtung von auftreffendem Licht um 90° vorhanden und so angeordnet ist, dass eines aus dem Transmissions- und dem Reflexionslicht (12B): zunächst auf den Polarisationsdreher (28), dann auf den zweiten Flüssigkristallbereich (35B), dann wieder auf den Polarisationsdreher (28) und dann auf den ersten Flüssigkristallbereich (35A) trifft,

während das andere aus dem Transmissions- und dem Reflexionslicht (12A) in umgekehrter Reihenfolge auf diese Komponenten (28, 35A, 35B) trifft.

8. Optikanordnung nach einem der Ansprüche 4 bis 7, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Flüssigkristallbereiche (35A, 35B) und die Polarisationsrichtungen des Transmissionslichts (12B) und des Reflexionslichts (12A) so ausgerichtet sind, dass sowohl das Transmissionslicht (12B) als auch das Reflexionslicht (12A) jeweils beim ersten Auftreffen auf einen der beiden Flüssigkristallbereiche (35A, 35B) unbeeinflusst bleiben und beim zweiten Auftreffen auf die Flüssigkristallbereiche (35A, 35B) beeinflusst werden.

9. Optikanordnung nach Anspruch 4, **dadurch gekennzeichnet**, dass Strahlumlenkelemente (16, 17, 19) zwischen dem Polarisationsstrahlteiler (10) und der Flüssigkristallmatrix (35) so angeordnet sind,

- dass Reflexionslicht (12A) vom Polarisationsstrahlteiler (10) auf einem ersten Strahlengang (11A) zu einem Flüssigkristallbereich (35A) der Flüssigkristallmatrix (35) geleitet wird und auf demselben ersten Strahlengang (11A) wieder zurück zum Polarisations-

strahlteiler (10) geleitet wird, wobei die Flüssigkristallmatrix (35) so angeordnet ist, dass je nach Schaltzustand ihrer Flüssigkristallelemente eine variable Polarisationsänderung, insbesondere eine 90°-Polarisationsdrehung oder keine Polarisationsdrehung, bewirkt wird,

wobei fakultativ auf dem ersten Strahlengang (11A) ein Polarisationsdreher (29) angeordnet ist, womit das von der Flüssigkristallmatrix (35) zurückkommende Reflexionslicht (12A) einstellbar am Polarisationsstrahlteiler (10) in Richtung eines Probenbereichs (83) transmittiert, in Richtung der Lichtquelle (1) reflektiert, oder zu einstellbaren Anteilen transmittiert und reflektiert wird,

- dass Transmissionslicht (12B) vom Polarisationsstrahlteiler (10) auf einem zweiten Strahlengang (11B) zu einem anderen Flüssigkristallbereich (35B) der Flüssigkristallmatrix (35) geleitet wird und auf demselben zweiten Strahlengang (11B) wieder zurück zum Polarisationsstrahlteiler (10) geleitet wird, wobei die Flüssigkristallmatrix (35) so angeordnet ist, dass je nach Schaltzustand ihrer Flüssigkristallelemente eine variable Polarisationsänderung, insbesondere eine 90°-Polarisationsdrehung oder keine Polarisationsdrehung, bewirkt wird,

wobei fakultativ der Polarisationsdreher (29) oder ein fakultativer zusätzlicher Polarisationsdreher im zweiten Strahlengang (11B) angeordnet ist, womit das von der Flüssigkristallmatrix (35) zurückkommende Transmissionslicht (12B) einstellbar am Polarisationsstrahlteiler (10) in Richtung des Probenbereichs (83) auf einen gemeinsamen Strahlengang (55) mit transmittiertem Reflexionslicht (12A) reflektiert wird, in Richtung der Lichtquelle (1) transmittiert wird oder zu einstellbaren Anteilen transmittiert und reflektiert wird.

10. Optikanordnung nach Anspruch 9, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Strahlumlenkelemente (16, 17, 19) so angeordnet sind, dass das Reflexionslicht (12A) senkrecht auf den Flüssigkristallbereich (35A) trifft und das Transmissionslicht (12B) senkrecht auf den anderen Flüssigkristallbereich (35B) trifft.

11. Optikanordnung nach Anspruch 9 oder 10, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Reflexionslicht (12A) und das Transmissionslicht (12B) denselben Polarisationsdreher (29) durchlaufen, welcher ein $\lambda/2$ -Plättchen ist, dessen optische Achse (29A) insbesondere einen Winkel von 22,5° zur Polarisationsrichtung (80A) des Reflexionslichts (12A) und einen Winkel von 67,5° zur Polarisationsrichtung (80B) des Transmissionslichts (12B) bildet, oder umgekehrt.

12. Optikanordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 11, **dadurch gekennzeichnet**, dass ein zusätzlicher AOTF vorm Polarisationsstrahlteiler (10) vorhanden ist, mit dem für farbsequentielle Messungen eine weitere Wellenlängenauswahl ermöglicht ist.

13. Lichtmikroskop mit einer Optikanordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 12.

14. Verfahren zur flexiblen Mehrfarbbeleuchtung für ein Lichtmikroskop,

- wobei mit einem AOTF (5) zwei Lichtanteile von auftreffendem Beleuchtungslicht (2) in unterschiedliche Beugungsordnungsrichtungen gebeugt werden, wobei sich die zwei Lichtanteile (2A, 2B) in ihrer Wellenlänge und Polarisation unterscheiden, oder wobei mit einem EOM zwei zeitlich aufeinander folgende Lichtanteile (2A, 2B) unterschiedlicher Wellenlänge auf verschiedene Polarisationsrichtungen eingestellt werden, **dadurch gekennzeichnet**,

- dass mit einem Polarisationsstrahlteiler (10) die beiden Lichtanteile unterschiedlicher Wellenlänge und Polarisation getrennt werden in Reflexionslicht (12A), das am Polarisationsstrahlteiler (10) reflektiert wird, und Transmissionslicht (12B), das am Polarisationsstrahlteiler (10) transmittiert wird,

- dass mit einer Lichtstrukturierungsvorrichtung (30) dem Transmissionslicht (12B) und dem Reflexionslicht (12A) verschiedene Strukturierungen aufgeprägt werden, und

- dass mit dem Polarisationsstrahlteiler (10) oder einem weiteren Polarisationsstrahlteiler das strukturierte Transmissionslicht (12B) und das strukturierte Reflexionslicht (12A) auf einen gemeinsamen Strahlengang (55) zusammengeführt werden.

15. Verfahren nach Anspruch 14, **dadurch gekennzeichnet**, dass eine aufgeprägte Strukturierung eine über einen Querschnitt des Reflexions- oder Transmissionslichts (12A, 12B) variierende Polarisation aufweist, wodurch ein durch die Lichtstrukturierungsvorrichtung (30) vorgegebbarer Teil des Reflexions- oder Transmissionslichts (12A, 12B) am Polarisationsstrahlteiler (10) auf den gemeinsamen Strahlengang (55) weitergeleitet wird und der übrige Teil in Richtung des AOTF (5) zurückgeleitet wird.

Es folgen 3 Seiten Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

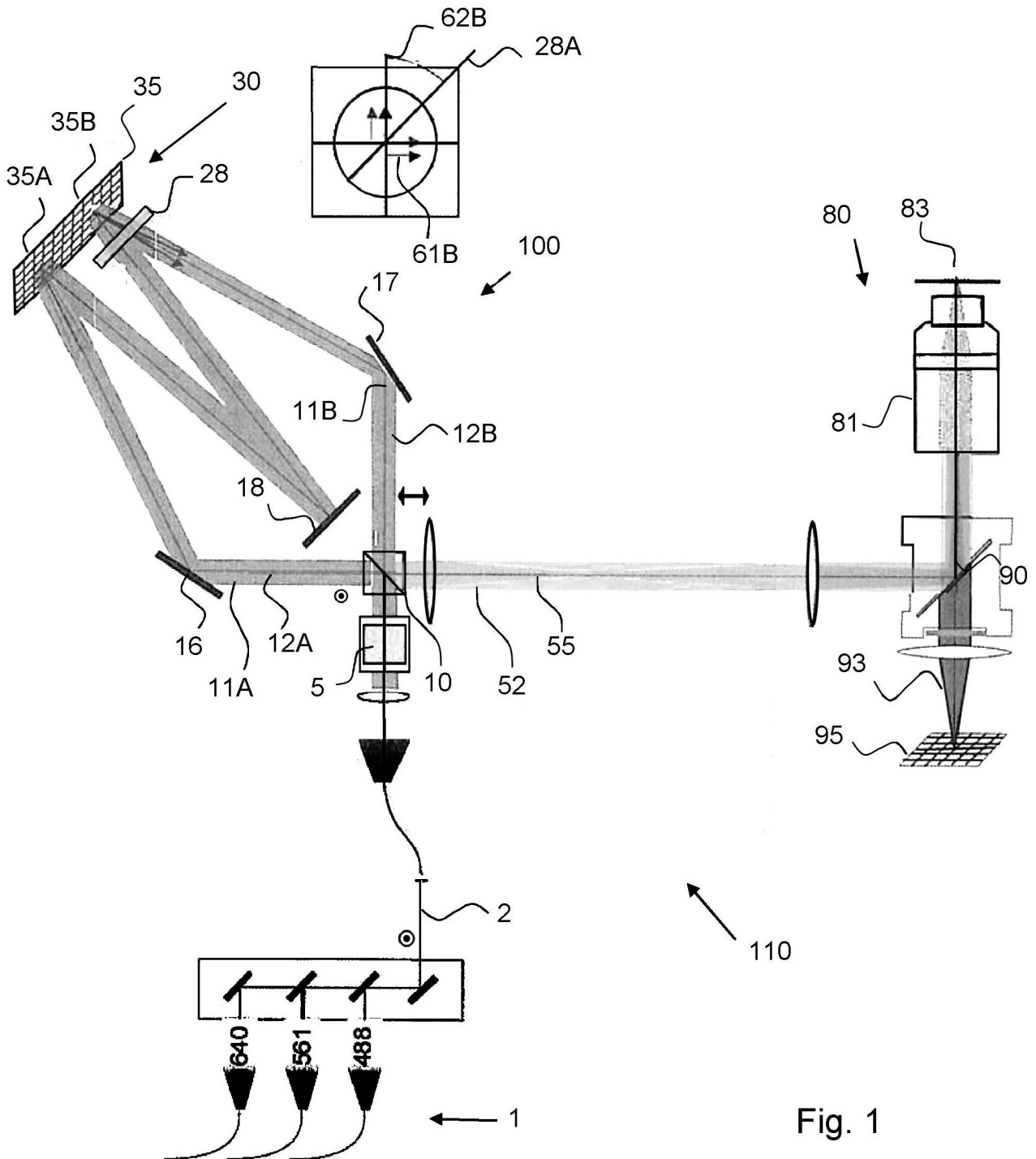


Fig. 1

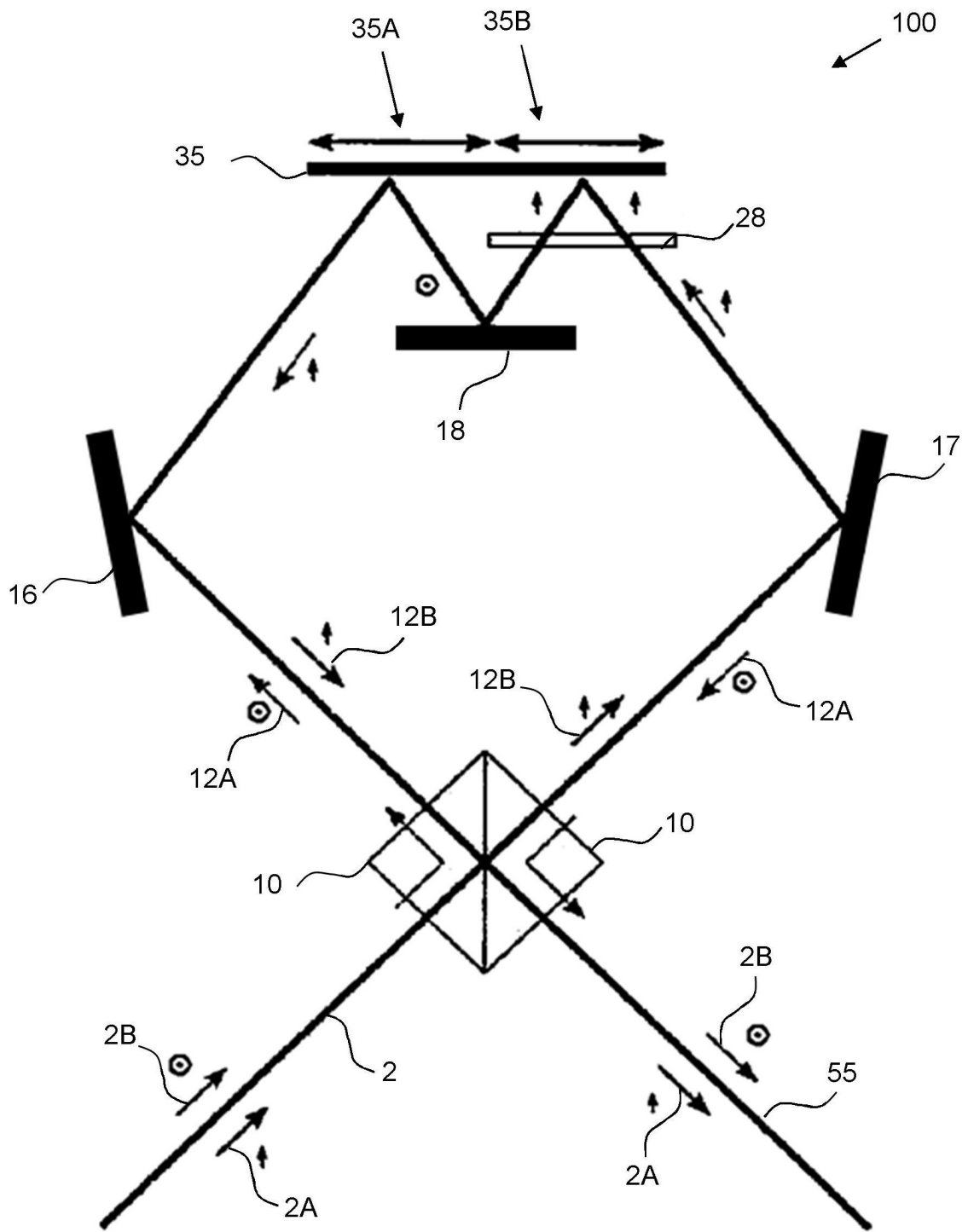


Fig. 2

